Aus dem Pharmakologischen Institut
der Freien Universität Berlin
Direktor: Professor Dr. med. Hans Herken

NIERENLEISTUNG UND MORPHOLOGIE NACH HOHEN FOLSÄUREDOSEN

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an der
Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

1970

vorgelegt von
Wolfgang Drescher
aus Mülhausen/Elsaß

Aus dem Pharmakologischen Institut
der Freien Universität Berlin
Direktor: Prof. Dr. med. Hans Herken

NIERENLEISTUNG UND MORPHOLOGIE NACH HOHEN FOLSÄUREDOSEN

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an der
Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

vorgelegt
von
Wolfgang Drescher
aus Mülhausen/Elsaß

Dekan: Professor Dr. med. Herbert L a x
Referent: Professor Dr. med. Hans H e r k e n
Korreferent: Professor Dr. med. Klaus H i e r h o l z e r

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 19. Februar 1970

Seite

Einleitung 5

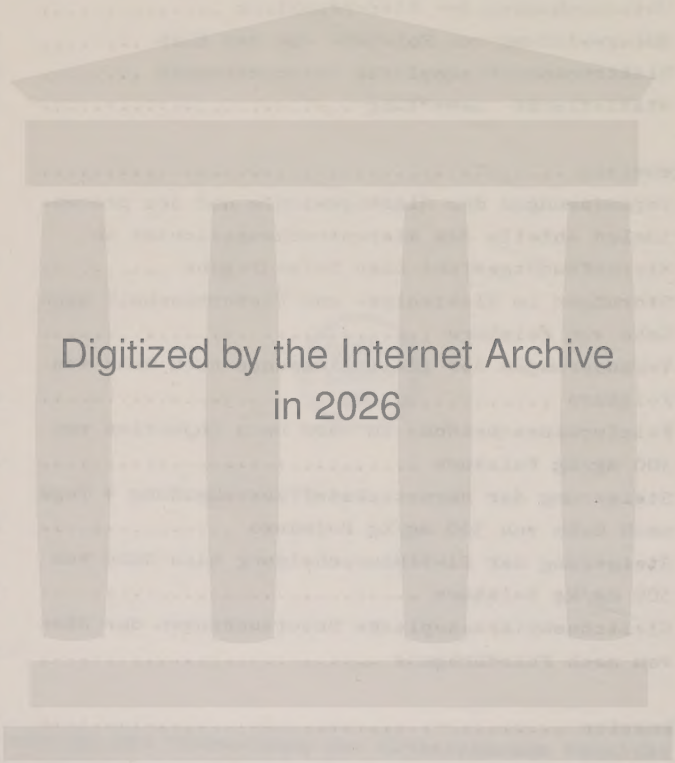
Methodik 7
1. Folsäureinjektionen 7
2. Bestimmung der Nierengewichte 7
3. Untersuchungen der Nierenfunktion 7
4. Rückgewinnung von Folsäure aus dem Harn 12
5. Elektronenmikroskopische Untersuchungen 13
6. Statistische Auswertung 14

Ergebnisse 15
1. Veränderungen der Nierengewichte und des prozentualen Anteils des Nierentrockengewichtes am Nierenfeuchtgewicht nach Folsäuregabe 15
2. Störungen im Elektrolyt- und Wasserhaushalt nach Gabe von Folsäure 19
3. Veränderungen der Inulinclearance nach Gabe von Folsäure 25
4. Folsäureausscheidung im Harn nach Injektion von 500 mg/kg Folsäure 28
5. Steigerung der Harnstickstoffausscheidung 4 Tage nach Gabe von 500 mg/kg Folsäure 28
6. Steigerung der Eiweißausscheidung nach Gabe von 500 mg/kg Folsäure 29
7. Elektronenmikroskopische Untersuchungen der Nieren nach Folsäuregabe 30

Diskussion 34

Zusammenfassung 49

Literaturverzeichnis 50



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546511_0013

E i n l e i t u n g

Untersuchungen von HADDOW (1954) ergaben, daß das Pteridinderivat Xanthopterin und andere Verbindungen Nierenvergrößerungen erzeugen, die mit einer gesteigerten mitotischen Aktivität in den Nierentubuli einhergehen.

Nach einmaliger intravenöser Injektion von Folsäure in einer Dosis von 250 mg/kg beobachteten THRELFALL, TAYLOR und BUCK (1966) eine erhebliche Nierenvergrößerung mit deutlicher Zunahme des Nierentrockengewichtes sowie des DNA- und RNA-Gehaltes der Zellen.

TAYLOR, THRELFALL und BUCK (1968) verglichen die Wirkung der Folsäure auf die Niere mit der anderer Pteridine und fanden, daß Folsäure und Xanthopterin, deren Pteridinringe sich nur geringfügig unterscheiden, eine Nierenvergrößerung und Zunahme des Nukleinsäuregehaltes induzieren, während Tetrahydrofolsäure und Triamteren keine Wirkung haben.

Ob die Hypertrophie der Niere u.a. Folge einer Stimulierung folsäureabhängiger biochemischer Reaktionen oder Folge unspezifischer Prozesse ist, wurde nicht geklärt.

Gegen die Annahme einer spezifischen biochemischen Induktion spricht, daß Xanthopterin gleiche Reaktionen wie Folsäure auslöst, während Tetrahydrofolsäure, die im Stoffwechsel die biochemisch aktive Form darstellt, offenbar nicht in der Lage ist, eine Nierenvergrößerung zu erzeugen (TAYLOR, THRELFALL und BUCK 1968).

Die letztgenannten Autoren glauben, daß die Ursache der Nierenvergrößerung auf einer Retention der Folsäure in der Niere beruht, wobei die Präzipitation der Substanz in den Tubuli zu einer Blockade der Funktion führen soll.

Andere Systeme, wie z.B. die temporäre Ischämie der Rattenniere, führen ebenfalls zu einer Vergrößerung der Nieren unter Zunahme des Nukleinsäuregehaltes (STÖCKER 1966; HÜBNER 1966; SCHUBERT und ZARDAY 1962), was mit Störungen

der Organfunktion verbunden ist. Nach temporärer Ischämie der Niere kommt es zu einer Verminderung des Glomerulumfiltrates, zu einer biphasischen Ausscheidungsstörung, einem steilen Rest-N-Anstieg und einer Albuminurie in der oligurischen Phase und zu einem allmählichen Abfall des Rest-N-Spiegels in der länger anhaltenden diuretischen Phase (KABOTH 1965; THOENES 1966; SCHNERMANN, NAGEL und THURAU 1966).

Das morphologische Bild nach temporärer Ischämie zeigte schwere hydropische Tubulusschäden, während das Glomerulum nur geringfügige und rasch vorübergehende Veränderungen zeigte (KABOTH 1965; SCHUBERT und ZARDAY 1962; THOENES 1966).

Auf Grund dieser Untersuchungen scheint die Schädigung des Nierengewebes, die eine Störung der Nierenfunktion zur Folge hat, nach temporärer Ischämie zu einer reparatorischen Regeneration zu führen, wobei es zu einer Zunahme des Nierengewichtes und des Nukleinsäuregehaltes kommt.

Da noch keine Analysen der Organfunktion und noch keine morphologischen Untersuchungen der Niere nach Applikation von Folsäure vorgenommen worden sind, soll dies in der vorliegenden Arbeit geschehen, um zur Klärung des Mechanismus der Nierenvergrößerung nach Folsäureinjektion beizutragen.

M e t h o d i k

In allen Versuchen wurden männliche Ratten (Wistar) verwendet, die, wenn nicht anders angegeben, ein Tiergewicht zwischen 130 g und 150 g hatten. Vor den Versuchen wurden die Tiere in Metallkäfigen gehalten. Futter (Mischfutter Altromin M 6 der Firma Altrogge) und Leitungswasser erhielten die Tiere ad libitum.

1. Folsäureinjektionen

Die Folsäure (E. Merck AG. Darmstadt) wurde durch Lösen in 0,3 M Natriumbikarbonatlösung in Konzentrationen von 250 mg, 350 mg und 500 mg Folsäure pro 10 ml in das Natriumsalz überführt.

In einer Einzeldosis von 250 mg, 350 mg oder 500 mg Folsäure pro kg Tiergewicht wurde die Lösung den Tieren, die mit Äther leicht anästhesiert waren, in eine Schwanzvene injiziert. Die Kontrolltiere gleichen Gewichts erhielten gleiche Volumina 0,3 M Natriumbikarbonatlösung.

2. Bestimmung der Nierengewichte

Nach Dekapitation der Tiere wurden die Nieren dekapsuliert, am Hilus abgetrennt, aufgeschnitten, in Filterpapier getrocknet und in kleinen Gläsern auf einer vollautomatischen Analysenwaage (Mettler) gewogen. Im Anschluß an die Wägung wurden die Nieren bei einer Temperatur von 90°C bis zur Gewichtskonstanz 3 bis 4 Tage getrocknet. Die Nierengewichte wurden in mg pro 100 g Tiergewicht angegeben.

3. Untersuchungen der Nierenfunktion

Zur Untersuchung der Nierenfunktion benutzten wir eine von HERKEN, SEMFT, SCHWARZ und MERKER (1963) beschriebene Infusionsapparatur, die aus einem früher angegebenen Ver-

fahren (HERKEN, SENFT und WILUTZKY 1956) entwickelt wurde.

Wir setzten die Tiere zur Urinsammlung in Plexiglaskäfige, die so konstruiert waren, daß Harn und Stuhl getrennt aufgefangen werden konnten. Die Käfige befanden sich in einer temperaturkonstanten Plexiglaskammer, aus der durch Trichter der von den Tieren ausgeschiedene Harn geleitet wurde, so daß Harnportionen, ohne die Kammer zu öffnen, zur Analyse entnommen werden konnten.
Mit einem Spektrophotometer (Beckmann Modell DU) mit Multiplier und Flammenphotometerzusatz nahmen wir die Natrium- und Kaliumanalysen vor. Die Messung des Kaliums erfolgte bei einer Wellenlänge von 769 mu und die des Natriums bei einer Wellenlänge von 589 mu. Die Harnproben wurden 1:100 verdünnt, um in den Konzentrationsbereich der Eichkurven zu gelangen, der für Kalium zwischen 0,1 uval und 0,5 uval und für Natrium zwischen 0,1 uval und 5,0 uval lag.

3.1 Bestimmung der Wasser- und Elektrolytausscheidung nach Folsäureapplikation

Zur Prüfung des Wasser- und Elektrolythaushaltes wurden unmittelbar im Anschluß an die Injektion von 500 mg Folsäure pro kg Tiergewicht die Wasser- und Elektrolytausscheidung gemessen.

Bei den Versuchen, in denen die Wasser- und Elektrolytausscheidung über einen Zeitraum von 3 Stunden nach Folsäureinjektion gemessen wurden, erhielten die Ratten eine kontinuierliche intravenöse Infusion einer 0,2%igen Kochsalzlösung, die 4,3% Glukose enthielt, wobei 5 ml pro Stunde appliziert wurden. Die intravenöse Dauerinfusion, die zur Erreichung eines steady-state 3 Stunden vor der Folsäureinjektion begann, erfolgte nach der Methode von COTLOVE (1961) in die Schwanzvene der nicht narkotisierten Ratte. In die durch Eintauchen in 50°C warmes Wasser

ausreichend dilatierte Vene führten wir mit einer scharfen Klemme eine Kanüle ein, deren stumpfes Ende mit einem Polyäthylenschlauch verbunden war. Dieser wurde mit Heftpflaster am Schwanz fixiert und an die Infusionsapparatur angeschlossen. Es wurden die Urinportionen der 0. bis 1/2., 1/2. bis 1., 1. bis 2. und 2. bis 3. Stunde entnommen und gemessen.

Da eine intravenöse Infusion über eine Dauer von 4 Tagen im Anschluß an die Folsäureinjektion zu einem Verschluß der Venen führte, infundierten wir den Ratten durch eine im Magen liegende Sonde im Abstand von jeweils 8 Stunden 7 ml einer 0,2%igen NaCl-Lösung mit 4,3% Glukose nach dem von HERKEN, SENFT, SCHWARZ und MERKER (1963) beschriebenen Verfahren. Einen Tag vor dem Versuch wurden den Ratten in Hexobarbitalnarkose (15 mg Evipan pro kg Tiergewicht) Stahlkronen mit einem seitlich angeschweißten Kanülenrohr auf die Oberkieferzähne gesetzt. Durch das Kanülenrohr führten wir in den Magen eine Sonde aus Polyäthylen, die 91 1/2 Stunden liegen blieb. Die Urinmengen wurden nach 24, 48, 72 und 91 1/2 Stunden abgenommen und gemessen.

3.2 Bestimmung der glomerulären Filtration

Als Maß für die glomeruläre Filtration wurde die Inulinclearance nach der Formel

$$\frac{\text{ml (Urin) x Urinkonzentration}}{\text{Plasmakonzentration x Minute x Tiergewicht}}$$

bestimmt und in ml/kg x min angegeben.

5 Stunden vor Beginn und für die Dauer der Clearanceperiode schlossen wir die Tiere bis zur Erreichung eines steady-state und zur Erzielung einer ausreichenden Urinmenge an die oben erwähnte Infusionsapparatur an (Infusionsgeschwindigkeit: 5 ml/h; Infusionslösung: 4,3% Glukose + 0,2% NaCl).

Applikation von Inulin: Nach den Angaben von PETERS (1959) injizierten wir 15 Minuten vor Beginn der

Clearanceperiode je 7,5 ml pro kg Tiergewicht subcutan und gleich darauf die gleiche Menge intraperitoneal einer frisch zubereiteten 2%igen Inulinlösung.

In der Clearanceperiode von 15 Minuten wurde der Urin gesammelt, anschließend die Urethra mit einer Kocherklemme abgeklemmt, die Tiere dekapitiert und das Blut in heparinisierten Zentrifugengläsern aufgefangen.

Nach Öffnung der Bauchhöhle wurde die am Blasenhals abgeklemmte Harnblase präpariert, abgetrennt und geöffnet. Den abfließenden Blasenurin gaben wir zusammen mit der nach zweimaligem Ausspülen der Blase mit destilliertem Wasser erhaltenen Spülflüssigkeit dem Urin der Clearanceperiode zu, füllten ihn mit destilliertem Wasser auf 25 ml auf und verdünnten ihn dann 1:10 für die colorimetrische Inulinbestimmung.

Das aufgefangene Blut wurde 10 Minuten bei 3000 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert, 0,5 ml Plasma abpipettiert und mit 4,5 ml 4%iger Trichloressigsäure enteiweißt (Verdünnung 1:10). Anschließend wurde 5 Minuten bei 3000 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert.

3.21 Inulinbestimmung

Die Konzentration des Polysaccharids Inulin in Serum und Urin bestimmten wir kolorimetrisch nach der von FÜHR, KACZMARCZYK und KRÜTTGEN (1955) angegebenen Methode. Sie beruht darauf, daß Hexosen und hexosehaltige Polysaccharide mit Anthron einen blaugefärbten Komplex bilden. Eine Unterscheidung zwischen Glukose und Inulin ist aber möglich, da die Intensität des mit Inulin gebildeten Farbkomplexes 50 mal stärker ist, wenn die Reaktion bei 55°C auf 10 Minuten begrenzt wird.

3 ml Anthronreagenz wurden mit 0,3 ml des 1:10 verdünnten Serums bzw. Urins versetzt und für 10 Minuten bei 55°C in einem Wasserbad erhitzt. Dann wurden die Proben abgekühlt und sofort mit einem Spektrophotometer (Beckmann Modell

DU) bei einer Wellenlänge von 625 mu gemessen.

3.22 Inulinclearance bei gleichzeitiger Applikation von Folsäure und 6-Methylprednisolon

Die Tiere erhielten intravenös 500 mg Folsäure pro kg Tiergewicht. Eine Stunde vor der Folsäuregabe wurde den Ratten 10 mg 6-Methylprednisolon pro kg Tiergewicht subcutan und weiterhin an den 3 folgenden Tagen jeweils 5 mg pro kg Tiergewicht subcutan injiziert. Die Inulinclearance bestimmten wir 4 Tage nach der Folsäureapplikation.

3.3 Inulinclearance von Ratten nach Dekapsulierung der Nieren

Einen Tag vor der Folsäureinjektion legten wir in Äthernarkose die Nieren durch einen dorsalen Rippenrandschnitt frei. Die Nierenkapsel wurde vorsichtig abpräpariert. Danach verschlossen wir wieder die Wunde durch 3 Muskelnähte und 3 Wundklammern. Die Inulinclearance wurde dann wie oben beschrieben 4 Tage nach der Folsäuregabe durchgeführt.

3.4 Gesamtstickstoff im Harn

Der Urin von Ratten, denen wir intravenös 5 ml Lösung (4,3% Glukose + 0,2% NaCl) pro Stunde infundierten, wurde über 15 Stunden gesammelt und nach KJELDAHL mit einem verbesserten Stickstoffbestimmungsapparat (Büchi) bestimmt.

3.5 Eiweißbestimmung im Harn

Die Eiweißausscheidung im Spontanurin einer Sammelperiode von 2 Stunden zu verschiedenen Zeiten ermittelten wir colorimetrisch nach der Methode von LOWRY, ROSEBROUGH, FARR und RANDALL (1951).

1 ml der auf 25 ml aufgefüllten Harnmenge wurde mit 5 ml alkalischer $CuSO_4$-Lösung aus 50 Teilen 2%igem Na_2CO_3 in n/10 NaOH und einem Teil einer 1:1 Mischung aus 1%igem $CuSO_4$ + 2%igem Kaliumtartrat versetzt. Nach 10 Minuten fügten wir 0,5 ml mit H_2O 1:1 verdünntes Reagens nach Folin-Ciocalteu hinzu. Der Ansatz wurde nach weiteren 30 Minuten mit einem Spektrophotometer (Beckmann Modell DU) gemessen. Zur Bestimmung der Konzentration benutzten wir folgende Eichreihe: 10, 20, 40, 60, 80, 100 Gamma Humanalbumin pro ml.

4. Rückgewinnung von Folsäure aus dem Harn

Der Harn wurde nach Injektion von 500 mg Folsäure pro kg Tiergewicht über 4 Stunden gesammelt. In diesem Zeitraum erhielten die Tiere eine Infusion von 2,5 ml Lösung (4,3% Glukose + 0,2% NaCl) pro Stunde. Um die ausgefallene Folsäure zu lösen, brachten wir den Urin auf pH 10 bis 12. Durch vorsichtiges Erhitzen auf 70°C im Wasserbad wurde das im Harn enthaltene Eiweiß ausgefällt und danach abfiltriert. Den Filter wuschen wir solange mit n/10 NaOH nach, bis er keine gelbe Farbe mehr aufwies. Das Filtrat stellten wir durch tropfenweise Zugabe von 1 n HCl auf pH 3 bis 4 ein, so daß die Folsäure flockig ausfiel. Nach 3 bis 4 stündiger Kühlung bei 4°C wurde der Harn über eine Fritte (G 3) abgesogen. Der zurückgebliebene Niederschlag wurde wiederholt mit aqua destillata und Äther nachgewaschen. Das Filtrat wurde nochmals alkalisiert, angesäuert und über die Fritte gegeben. Der genügend gewaschene Niederschlag, der bei 60°C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet wurde, wurde anschließend auf einer vollautomatischen Analysenwaage (Mettler) gewogen.

Um den gravimetrisch bestimmten Niederschlag zu identifizieren, schrieben wir das Spektrum der so gereinigten Substanz mit dem Spektralphotometer (Beckmann Modell DK 2) von 400 mμ bis 230 mμ. Das Spektrum zeigte die gleichen Maxima bei 256 mμ, 283 mμ und 365 mμ wie das Spektrum der

zum Vergleich geschriebenen Folsäure (Abb. 1)

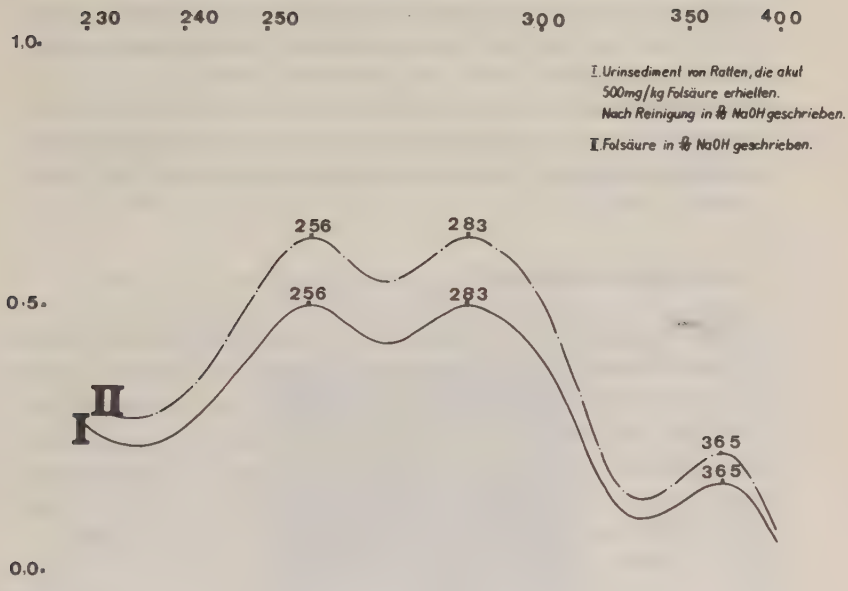


Abb. 1

Spektrophotometrische Identifizierung der im Urin ausgeschiedenen Folsäure (I) durch Vergleich mit dem Spektrum von Folsäure (II)

5. Elektronenmikroskopische Untersuchungen

Für die Hilfe bei der Anfertigung der elektronenmikroskopischen Aufnahmen danke ich Herrn Prof. Dr. med. W. Schwarz und Herrn Priv. Doz. Dr. med. Merker vom II. Anatomischen Institut der Freien Universität Berlin.

Für die elektronenmikroskopische Beurteilung wurden die Nieren in möglichst dünne Scheiben zerschnitten, die dann

in toto entweder in 2%igem Glutaraldehyd (pH 7,2 in Phosphatpuffer 0,1 M) und folgend in 1%iger OsO_4-Lösung oder nur in OsO_4-Lösung (1%ig; Phosphatpuffer pH 7,2; 0,1 M) fixiert wurden. Aus diesen Scheiben konnten darauf unter der Präparierlupe die entsprechenden Nephronabschnitte herauspräpariert, in der Acetonreihe entwässert und in Vestopal eingebettet werden. Schnitte: LKB- und Servall-Mikrotome. Die Kontrastierung erfolgte mit Uranylacetat und Bleihydroxyd. Aufnahmen: Siemens-Elmiskop I (80 KV; Blenden 200/50 µ).

6. Statistische Auswertung

Bei der statistischen Auswertung gaben wir die Mittelwerte der Meßergebnisse sowie die absoluten mittleren Fehler der Mittelwerte ($M \pm \xi$) an. Die statistische Signifikanz berechneten wir nach PÄTAU(1943). Danach werden signifikante Unterschiede zwischen zwei Mittelwerten angenommen, wenn sich die Gaußschen Verteilungskurven um 5% oder weniger überschneiden, d.h. der dafür charakteristische Wert p gleich oder kleiner als 0,05 ist.

E r g e b n i s s e

1. Veränderungen der Nierengewichte und des prozentualen Anteils des Nierentrockengewichtes am Nierenfeuchtgewicht nach Folsäuregabe

Bevor wir die Nierenfunktion der mit hohen Dosen Folsäure behandelten Ratten untersuchten, führten wir Versuche über Veränderungen der Nierengewichte nach Folsäuregabe durch (Abb. 2)

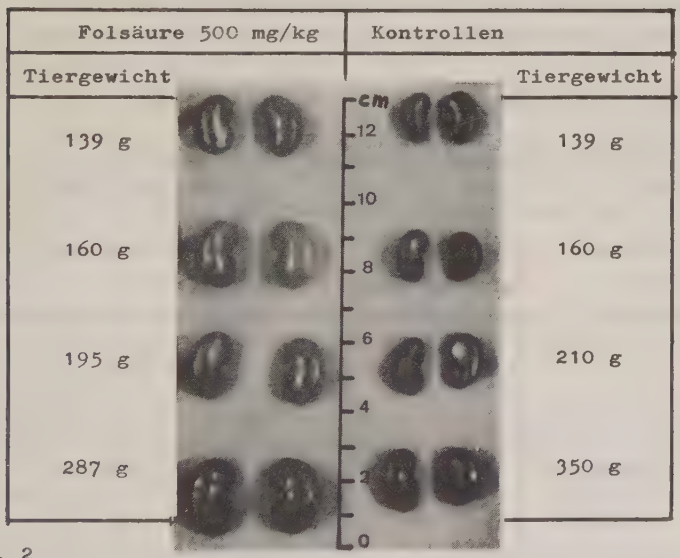


Abb. 2

Nierenvergrößerung 4 Tage nach einer einmaligen Folsäuregabe von 500 mg/kg

1 Veränderungen der Nierengewichte nach Folsäuregabe in Abhängigkeit von der Dosis

Wir fanden (Tab. 1), daß 4 Tage nach Injektion von

250 mg/kg, 350 mg/kg oder 500 mg/kg Folsäure die Feucht- und Trockengewichte der Nieren mit steigender Folsäuredosis zunahmen. Nach einer Dosis von 500 mg/kg Folsäure beobachteten wir die größte Zunahme. Hier stiegen signifikant das Nierenfeuchtgewicht um 88% und das Nierentrockengewicht um 40% gegenüber den Kontrollwerten an. Der prozentuale Anteil des Nierentrockengewichtes am Nierenfeuchtgewicht ist nach höheren Folsäuredosen geringer, d.h., daß das Feuchtgewicht bei Steigerung der Folsäuredosis stärker zunimmt als das Trockengewicht. Am 4. Tage nach der Injektion von 500 mg/kg Folsäure betrug der prozentuale Anteil des Nierentrockengewichtes am Nierenfeuchtgewicht 17,1% gegenüber 22,9% der Kontrolltiere..

Tabelle 1

Veränderungen der Nierengewichte und des prozentualen Anteils des Nierentrockengewichtes am Nierenfeuchtgewicht von Ratten mit einem Tiergewicht zwischen 130 g und 150 g, die 4 Tage vorher Folsäure bekommen hatten.

Folsäure mg/kg	Kontrollen	250	350	500
Feuchtgewicht mg/100 g Tier	749	1055	1100	1407
± ε	14	22	73	44
p zu Kontrollen		< 0,0002	< 0,0002	< 0,0002
Trockengewicht mg/100 g Tier	172	212	214	241
± ε	3	4	13	8
p zu Kontrollen		< 0,0002	< 0,005	< 0,0002
Trockengewicht in % des Feuchtgewichtes	22,9	20,1	19,5	17,1

1.2 Veränderungen der Nierengewichte nach Folsäuregabe in Abhängigkeit von der Zeit

4, 7 und 10 Tage nach Gabe von 500 mg/kg Folsäure zeigte

sich (Tab. 2) gegenüber den Kontrollwerten eine signifikante Zunahme des Feucht- und Trockengewichtes der Nieren. Das Feuchtgewicht war am 4. Tage maximal, fiel dann am 7. und 10. Tage wieder etwas ab, während das Trockengewocht am 4., 7. und 10. Tage nach Folsäureapplikation gegenüber den Kontrolltieren annähernd konstant vermehrt blieb. Der prozentuale Anteil des Nierentrockengewichtes am Nierenfeuchtgewicht war am 4. Tage nach Folsäuregabe am geringsten, um nach 7 und 10 Tagen wieder anzusteigen, ohne den Wert der Kontrolltiere zu erreichen.

Tabelle 2

Veränderungen der Nierengewichte und des prozentualen Anteils des Nierentrockengewichtes am Nierenfeuchtgewicht von Ratten mit einem Tiergewicht zwischen 130 g und 150 g, die 4, 7 und 10 Tage vorher 500 mg/kg Folsäure bekommen hatten

Tage	Kontrollen	4	7	10
Feuchtgewicht mg/100 g Tier	749	1407	1326	1273
± ξ	14	44	67	41
p zu Kontrollen		< 0,0002	< 0,0002	< 0,0002
Trockengewicht mg/100 g Tier	172	241	248	246
± ξ	3	8	11	6
p zu Kontrollen		< 0,0002	< 0,0002	< 0,0002
Trockengewicht in % des Feuchtgewichtes	22,9	17,1	18,7	19,3

3 Veränderungen der Nierengewichte und des prozentualen Anteils des Nierentrockengewichtes am Nierenfeuchtgewicht nach Folsäuregabe in Abhängigkeit vom Tiergewicht

Tabelle 3 und Abbildung 2 stellen die Zunahme der Nierengewichte in Abhängigkeit vom Tiergewicht nach Injektion

von 500 mg/kg Folsäure dar. Die Ratten der höheren Gewichtsklasse lassen am 4. Tage nach der intravenösen Injektion der Folsäure eine größere Zunahme sowohl des Feucht- als auch des Trockengewichtes der Nieren erkennen. Wir fanden bei den Ratten mit einem Tiergewicht zwischen 220 g und 265 g gegenüber den Kontrolltieren eine Zunahme des Nierenfeuchtgewichtes um 147% und des Nierentrockengewichtes um 89%. Der prozentuale Anteil des Nierentrockengewichtes am Nierenfeuchtgewicht betrug in dieser Gewichtsklasse 17,1% für die mit Folsäure behandelten Tiere und 21,8% für die Kontrolltiere.

Tabelle 3

Veränderungen der Nierengewichte und des prozentualen Anteils des Nierentrockengewichtes am Nierenfeuchtgewicht von verschiedenen Gewichtsklassen, die 4 Tage vorher 500 mg/kg Folsäure bekommen hatten

Tiergewicht	130 g - 150 g		220 g - 265 g	
	Kontrollen	Folsäure	Kontrollen	Folsäure
Feuchtgewicht mg/100 g Tier	749	1407	675	1669
± ε	14	44	15	34
p zu Kontrollen		< 0,0002		< 0,0002
Trockengewicht mg/100 g Tier	172	241	151	285
± ε	3	8	2	3
p zu Kontrollen		< 0,0002		< 0,0002
Trockengewicht in % des Feuchtgewichtes	22,9	17,1	21,8	17,1

2. Störungen im Elektrolyt- und Wasserhaushalt nach Gabe von Folsäure

Das Verhalten des Elektrolyt- und Wasserhaushaltes wurde durch Messung der Elektrolyt- und Wasserausscheidung zu verschiedenen Zeiten nach der einmaligen Injektion von 500 mg/kg Folsäure geprüft.

2.1 Wasser- und Elektrolytausscheidung über 3 Stunden unmittelbar nach Injektion von 500 mg/kg Folsäure unter intravenöser Zufuhr einer 0,2%igen Kochsalzlösung mit 4,3% Glukose, wobei 5 ml pro Stunde infundiert wurden (Tab. 4)

0 bis 1/2 Stunde nach Folsäuregabe und Infusionsbeginn sank die Natriumausscheidung von 326,7 /uval der Kontrolltiere auf 204,0 /uval der mit Folsäure behandelten Tiere. Das entsprach einer Abnahme der Natriumelimination um 37%. Die Wasserausscheidung fiel von 3,6 ml der Kontrolltiere auf 2,0 ml der behandelten Tiere, d.h. um 44% und die Kaliumausscheidung von 87,9 /uval auf 43,9 /uval, d.h. um 50% ab (Tab. 4a).

1/2 bis 1 Stunde nach Folsäuregabe und Infusionsbeginn sank die Natriumausscheidung von 168,0 /uval der Kontrolltiere auf 38,0 /uval der mit Folsäure behandelten Tiere (um 77%), die Wasserausscheidung von 2,7 ml auf 0,4 ml (um 85%) und die Kaliumausscheidung von 56,4 /uval auf 15,2 /uval (um 73%) (Tab. 4b).

1 bis 2 Stunden nach Folsäuregabe und Infusionsbeginn war die Wasser- und Elektrolytausscheidung der behandelten Tiere gegenüber den Kontrolltieren weiterhin vermindert. Die Natriumausscheidung wurde von 289,1 /uval auf 45,8 /uval (um 84%) gesenkt, die Wasserausscheidung von 4,8 ml auf 0,6 ml (um 88%) und die Kaliumausscheidung von 66,6 /uval auf 19,1 /uval (um 71%) (Tab. 4c).

2 bis 3 Stunden nach Folsäuregabe und Infusionsbeginn war die Wasser- und Elektrolytausscheidung der behandelten

Tiere gegenüber den ontrolltieren immer noch vermindert. Die Natrium- und Wasserausfuhr der Kontrolltiere entsprach zu diesem Zeitpunkt der Einfuhr. Die Natriumausscheidung von 162,7 µval der Kontrolltiere fiel auf 71,9 µval der behandelten Tiere (um 56%), die Wasserausscheidung von 4,6 ml auf 1,1 ml (um 76%) und die Kaliumausscheidung von 44,2 µval auf 25,5 µval (um 42%) (Tab. 4d).

Tabelle 4 (a, b, c, d und e)

Wasser- und Elektrolytausscheidung über eine Dauer von 3 Stunden unmittelbar im Anschluß an die Injektion von 500 mg/kg Folsäure in 10 ml 0,3 M $NaHCO_3$-Lösung. Kontrolltiere erhielten gleiche Volumina 0,3 M $NaHCO_3$-Lösung. Über den Versuchszeitraum i.v. Infusion mit 0,2%iger NaCl- und 4,3%iger Glukose-Lösung. Infusionsgeschwindigkeit: 5 ml/h

4a. 0 bis 1/2 Stunde nach Folsäuregabe

	Kontrollen		Folsäure 500 mg/kg	
	Einfuhr	Ausfuhr ± ε	Einfuhr	Ausfuhr ± ε
Wasser in ml	4,0	3,6 ± 0,1	4,0	2,0 ± 0,3
Natrium in µval	520,6	326,7 ± 26,2	520,6	204,0 ± 8,0
Kalium in µval	-	87,9 ± 9,8	-	43,9 ± 3,7

4b. 1/2 bis 1 Stunde nach Folsäuregabe

	Kontrollen		Folsäure 500 mg/kg	
	Einfuhr	Ausfuhr ± ε	Einfuhr	Ausfuhr ± ε
Wasser in ml	2,5	2,7 ± 0,4	2,5	0,4 ± 0,0
Natrium in µval	85,6	168,0 ± 14,1	85,6	38,0 ± 2,6
Kalium in µval	-	56,4 ± 10,0	-	15,2 ± 2,0

4c. 1 bis 2 Stunden nach Folsäuregabe

	Kontrollen		Folsäure 500 mg/kg	
	Einfuhr	Ausfuhr ± ε	Einfuhr	Ausfuhr ± ε
Wasser in ml	5,0	4,8 ± 0,1	5,0	0,6 ± 0,2
Natrium in µval	171,1	289,1 ± 14,3	171,1	45,8 ± 14,4
Kalium in µval	-	66,6 ± 9,1	-	19,1 ± 6,1

4d. 2 bis 3 Stunden nach Folsäuregabe

	Kontrollen		Folsäure 500 mg/kg	
	Einfuhr	Ausfuhr ± ε	Einfuhr	Ausfuhr ± ε
Wasser in ml	5,0	4,6 ± 0,1	5,0	1,1 ± 0,2
Natrium in µval	171,1	162,7 ± 9,3	171,1	71,9 ± 21,9
Kalium in µval	-	44,2 ± 1,0	-	25,5 ± 2,7

4e. 0 bis 3 Stunden nach Folsäuregabe insgesamt

	Kontrollen		Folsäure 500 mg/kg	
	Einfuhr	Ausfuhr ± ε	Einfuhr	Ausfuhr ± ε
Wasser in ml	16,5	15,7 ± 0,4	16,5	4,1 ± 0,5
		---------- p < 0,0002 ----------		
Natrium in µval	948,4	946,5 ± 17,5	948,4	359,7 ± 35,1
		---------- p < 0,0002 ----------		
Kalium in µval	-	255,1 ± 9,0	-	103,7 ± 5,3
		---------- p < 0,0002 ----------		

Die Natrium- und Wasserbilanz der Kontrolltiere war 0 bis 3 Stunden nach Folsäuregabe und Infusionsbeginn insgesamt ausgeglichen. Dagegen betrug die Natriumausscheidung der mit Folsäure behandelten Tiere 359,7 /uval gegenüber 946,5 /uval der Kontrolltiere. Das bedeutete eine Abnahme der Natriumelimination um 62%. Die Wasserausscheidung wurde von 15,7 ml der Kontrolltiere auf 4,1 ml der behandelten Tiere, d.h. um 74% gesenkt und die Kaliumausscheidung von 255,1 /uval auf 103,7 /uval, d.h. um 59% (Tab. 4e).

Die Injektion von 500 mg/kg Folsäure führte somit über die Versuchszeit von 3 Stunden unmittelbar im Anschluß an die Injektion zu einer signifikanten Abnahme der Elektrolyt- und Wasserelimination, d.h. zu einer deutlichen Retention von Natrium und Wasser.

2.2 Wasser- und Elektrolytausscheidung über 4 Tage unmittelbar nach Injektion von 500 mg/kg Folsäure unter Zufuhr von 7 ml einer 0,2%igen Kochsalzlösung mit 4,3% Glukose im Abstand von jeweils 8 Stunden (Tab. 5)

Die Wasserausscheidung wurde 0 bis 24 Stunden nach Folsäureinjektion von 18,3 ml der Kontrolltiere auf 12,6 ml der mit Folsäure behandelten Tiere verringert. Das entsprach einer Abnahme um 31%. Die Natriumausscheidung der behandelten Tiere war geringfügig erniedrigt. Sie nahm gegenüber den Kontrolltieren um 3% ab. Die Kaliumausscheidung wurde um 9% gesenkt (Tab. 5a)

24 bis 48 Stunden nach Folsäureinjektion war die Wasserausscheidung mit 21,9 ml der mit Folsäure behandelten Tiere gegenüber 15,6 ml der Kontrolltiere um 40% gesteigert. Die Natriumausscheidung wurde von 553,1 /uval der Kontrolltiere auf 950,8 uval der behandelten Tiere erhöht und die Kaliumausscheidung stieg von 673,3 /uval der Kontrolltiere auf 816,3 uval der behandelten Tiere. Das entsprach einer Steigerung der Natriumelimination um 72% und der Kaliumelimination um 21% (Tab. 5b).

48 bis 72 Stunden nach Folsäureinjektion betrug die Mehrausscheidung der mit Folsäure behandelten Tiere an Wasser 18%, an Natrium 10% und an Kalium 13% gegenüber den Kontrolltieren (Tab. 5c).

Die Natriumausscheidung der mit Folsäure behandelten Tiere war 72 bis 91 1/2 Stunden nach Folsäureinjektion gegenüber den Kontrolltieren nicht mehr verändert. Die Kaliumausscheidung der behandelten Tiere war noch um 6% und die Wasserausscheidung noch um 3% gegenüber den Kontrolltieren erhöht (Tab. 5d).

Wie in Tabelle 5 deutlich wird, tritt in den ersten 24 Stunden nach Injektion von 500 mg/kg Folsäure eine oligurische Phase und daran anschließend eine diuretische Phase von etwa 48 Stunden Dauer auf.

Tabelle 5 (a, b, c und d)

Wasser- und Elektrolytausscheidung über eine Dauer von 4 Tagen unmittelbar im Anschluß an die Injektion von 500 mg/kg Folsäure in 10 ml 0,3 M $NaHCO_3$-Lösung. Kontrolltiere erhielten gleiche Volumina 0,3 M $NaHCO_3$-Lösung. Perorale Zufuhr von 7 ml einer 0,2%igen NaCl-Lösung mit 4,3% Glukose im Abstand von jeweils 8 Stunden

5a. 0 bis 24 Stunden nach Folsäuregabe

	Kontrollen		Folsäure 500 mg/kg	
	Einfuhr	Ausfuhr ± ε	Einfuhr	Ausfuhr ± ε
Wasser in ml	22,5	18,3 ± 1,6	22,5	12,6 ± 1,1
Natrium in µval	1168,6	1106,4 ± 50,8	1168,6	1069,0 ± 54,4
Kalium in µval	-	762,8 ± 41,6	-	692,1 ± 9,6

5b. 24 bis 48 Stunden nach Folsäuregabe

	Kontrollen		Folsäure 500 mg/kg	
	Einfuhr	Ausfuhr ± ε	Einfuhr	Ausfuhr ± ε
Wasser in ml	21,0	15,6 ± 2,3	21,0	21,9 ± 0,4
Natrium in µval	718,6	553,1 ± 104,6	718,6	950,8 ± 39,1
Kalium in µval	-	673,3 ± 75,6	-	816,3 ± 47,3

5c. 48 bis 72 Stunden nach Folsäuregabe

	Kontrollen		Folsäure 500 mg/kg	
	Einfuhr	Ausfuhr ± ε	Einfuhr	Ausfuhr ± ε
Wasser in ml	21,0	16,7 ± 1,9	21,0	19,7 ± 1,4
Natrium in µval	718,6	601,7 ± 40,1	718,6	658,6 ± 67,3
Kalium in µval	-	581,0 ± 123,3	-	653,9 ± 27,6

5d. 72 bis 91 1/2 Stunden nach Folsäuregabe

	Kontrollen		Folsäure 500 mg/kg	
	Einfuhr	Ausfuhr ± ε	Einfuhr	Ausfuhr ± ε
Wasser in ml	21,0	14,0 ± 0,3	21,0	14,6 ± 0,6
Natrium in µval	718,6	518,6 ± 64,1	718,6	518,1 ± 36,9
Kalium in µval	-	372,6 ± 42,3	-	395,2 ± 31,9

3. Veränderungen der Inulinclearance nach Gabe von Folsäure

3.1 Einschränkung der Inulinclearance 4 Tage nach Gabe von 500 mg/kg Folsäure (Tab. 6)

Die Messung der Inulinclearance bei der von uns gewählten Infusionsgeschwindigkeit ergab, daß die glomeruläre Filtration 4 Tage nach Injektion von 500 mg kg Folsäure von 7,2 ml/kg x min der Kontrolltiere auf 2,5 ml/kg x min der mit Folsäure behandelten Tiere abgesunken war, d.h., daß die Folsäureinjektion zu einer Erniedrigung der glomerulären Filtration um 65% geführt hatte.

Tabelle 6

Einschränkung der Inulinclearance 4 Tage nach i.v. Injektion von 500 mg/kg Folsäure

	Kontrollen	Folsäure 500 mg/kg
Inulinclearance ml/kg x min	7,2	2,5
± s	0,4	0,5
	--------- p < 0,0002 ---------	

3.2 Einschränkung der Inulinclearance 10 Tage nach Gabe von 500 mg/kg Folsäure (Tab. 7)

Bei den Ratten, die 10 Tage nach Injektion von 500 mg/kg Folsäure untersucht worden waren, ergaben sich ähnliche Verhältnisse, die aber nicht so ausgeprägt waren. Die glomeruläre Filtration wurde von 7,3 ml/kg x min der Kontrolltiere auf 4,0 ml/kg x min der behandelten Tiere gesenkt. Damit war die glomeruläre Filtration 10 Tage nach der Folsäureinjektion noch immer um 45% gegenüber den Kontrollwerten herabgesetzt.

3.3 Inulinclearance 4 Tage nach Gabe von 500 mg/kg Folsäure bei Ratten, deren Nieren einen Tag vor der Folsäureinjek-

tion dekapsuliert worden waren (Tab. 8)

Wir prüften, ab die Dekapsulierung der Nieren die Einschränkung der glomerulären Filtration der mit 500 mg/kg Folsäure behandelten Tiere beeinflußt. Dies ist unter den gewählten Versuchsbedingungen nicht der Fall. Nach Dekapsulierung der Nieren ergab die Inulinclearance der Kontrolltiere einen Wert von 9,6 ml kg x min, der 4 Tage nach der Injektion von Folsäure auf 3,2 ml/kg x min gesenkt worden war (um 67%). Die prozentuale Einschränkung der glomerulären Filtration 4 Tage nach Folsäureinjektion stimmte bei den Tieren, deren Nieren dekapsuliert worden waren, mit der Einschränkung der glomerulären Filtration der Tiere überein, deren Nieren nicht dekapsuliert worden waren.

Tabelle 7

Einschränkung der Inulinclearance 10 Tage nach i.v. Injektion von 500 mg/kg Folsäure

	Kontrollen	Folsäure 500 mg/kg
Inulinclearance ml/kg x min	7,3	4,0
± ε	0,5	0,4
	--------- p < 0,002 ---------	

Tabelle 8

Inulinclearance 4 Tage nach i.v. Injektion von 500 mg/kg Folsäure von Ratten, deren Nieren einen Tag vor Folsäureinjektion dekapsuliert worden waren. Nieren der Kontrolltiere ebenfalls dekapsuliert

Dekapsulierung	Kontrollen	Folsäure 500 mg/kg
Inulinclearance ml/kg x min	9,6	3,2
± ε	0,5	1,0
	--------- p < 0,0003 ---------	

3.4 Beeinflussung der Einschränkung der Inulinclearance 4 Tage nach Gabe von 500 mg/kg Folsäure durch Applikation von 6-Methylprednisolon (Tab. 9)

Die Inulinclearance der nur mit 6-Methylprednisolon behandelten Tiere ergab einen Wert von 12,1 ml/kg x min, wogegen die Inulinclearance der mit Folsäure und 6-Methylprednisolon behandelten Tiere nur einen Wert von 6,3 ml/kg x min erreichte, was eine Senkung um 48% entsprach.

Durch gleichzeitige Applikation von 6-Methylprednisolon und Folsäure ließ sich die folsäurebedingte Einschränkung der glomerulären Filtration nicht normalisieren. Es konnte lediglich eine Verringerung der folsäurebedingten Filtrationseinschränkung von 65% auf eine Filtrationseinschränkung von 48% nach Gabe von Folsäure und 6-Methylprednisolon erreicht werden.

Tabelle 9

Beeinflussung der Einschränkung der Inulinclearance 4 Tage nach i.v. Injektion von 500 mg/kg Folsäure durch 6-Methylprednisolon. 1 Stunde vor Folsäureinjektion wurden 10 mg/kg 6-Methylprednisolon s.c. und weiterhin an den 3 folgenden Tagen jeweils 5 mg/kg s.c. injiziert. Kontrolltiere erhielten gleiche Mengen 6-Methylprednisolon

6-Methylprednisolon	Kontrollen	Folsäure 500 mg/kg
Inulinclearance ml/kg x min	12,1	6,3
± ε	0,7	0,5
	--------- p < 0,0006 ---------	

4. **Folsäureausscheidung im Harn nach Injektion von 500 mg/kg Folsäure (Abb. 1)**

Unmittelbar im Anschluß an die einmalige intravenöse Injektion von 500 mg/kg Folsäure wurden bei einer kontinuierlichen intravenösen Infusion von 2,5 ml/h einer 0,2%-igen Kochsalzlösung mit 4,3% Glukose in dem über 4 Stunden gesammelten Harn 203,4 mg/kg Folsäure isoliert und spektrophotometrisch identifiziert. Das bedeutete, daß 41% der applizierten Menge innerhalb von 4 Stunden wieder ausgeschieden worden sind.

5. Steigerung der Harnstickstoffausscheidung 4 Tage nach Gabe von 500 mg/kg Folsäure (Tab. 10)

4 Tage nach Folsäuregabe hatten die Tiere eine signifikante Stickstoffmehrausscheidung im Harn. Die Stickstoffausscheidung stieg von 52,9 mg/15 h pro Tier der Kontrolltiere auf 159,4 mg/15 h pro Tier der behandelten Tiere. Das bedeutete eine Mehrausscheidung um 201%.

Tabelle 10

Harnstickstoffausscheidung über eine Dauer von 15 Stunden 4 Tage nach i.v. Injektion von 500 mg/kg Folsäure. Über den Versuchszeitraum i.v. Infusion einer 0,2%igen NaCl- und 4,3%igen Glukose-Lösung. Infusionsgeschwindigkeit: 5 ml/h

	Kontrollen	Folsäure 500 mg/kg
Harnstickstoff in mg/15 h pro Tier	25,9	159,4
± €	6,0	11,3
	--------- p < 0,0002 ---------	

6. Steigerung der Eiweißausscheidung nach Gabe von 500 mg/kg Folsäure (Tab. 11)

Wir prüften, ob Folsäure in dieser Dosierung die Eiweißausscheidung beeinflußt. Einen Tag nach der Gabe von Folsäure schieden die Ratten an Eiweiß 7,1 mg/2 h pro Tier mit dem Harn aus. Der Urin der Kontrolltiere enthielt 4,9 mg/2 h pro Tier an Eiweiß. Das bedeutete eine Erhöhung der Eiweißausscheidung am 1. Tage nach Folsäureinjektion um 45%. Die Menge des am 4. Tage nach Folsäuregabe ausgeschiedenen Eiweißes nahm von 3,5 mg/2 h pro Tier bei den Kontrolltieren auf 5,1 mg/2 h pro Tier bei den mit Folsäure behandelten Tieren zu, d.h. um 44%. Am 5. Tage nach Folsäureapplikation schieden die behandelten Tiere nur noch 8% mehr aus als die Kontrolltiere, während am 9. Tage nach Folsäureinjektion die Eiweißausscheidung der behandelten Tiere wieder die Größe der Ausscheidung der Kontrolltiere erreichte.

Tabelle 11

Steigerung der Eiweißausscheidung im über 2 Stunden spontan gelassenen Harn 1, 4, 5 und 9 Tage nach i.v. Injektion von 500 mg/kg Folsäure

Zeit nach Folsäuregabe	Eiweißausscheidung ± ε in mg/2 h pro Tier	
Tage	Kontrollen	Folsäure 500 mg/kg
1	4,9 ± 0,1	7,1 ± 0,2
	-------- p < 0,0002 ---------	
4	3,5 ± 0,2	5,1 ± 0,0
	-------- p < 0,0002 ---------	
5	4,2 ± 0,1	4,6 ± 0,1
	-------- p < 0,07 ---------	
9	3,8 ± 0,3	3,8 ± 0,2

7. Elektronenmikroskopische Untersuchungen der Nieren nach Folsäuregabe (Abb. 3 und Abb. 4)

Um zu untersuchen, ob morphologische Veränderungen nach intravenöser Injektion von 500 mg/kg Folsäure an den Nieren auftreten, wurden elektronenmikroskopische Aufnahmen 1 Stunde nach Folsäureinjektion angefertigt. Am Glomerulum, am iuxtaglomerulären Apparat und an den Gefäßen waren keine Strukturveränderungen festzustellen. Das Endothel, die Basalmembran und die Deckzellen der Glomerula waren unversehrt. Dagegen fanden sich beträchtliche Schädigungen an den Zellen des proximalen Tubulus, in denen man geschwollene Mitochondrien mit hellen und dunklen Einschlüssen erkennen konnte. Weiterhin sah man an den Zellen Aufblähungen der Mikrovilli und ein Abflachen bzw. ein Fehlen der tiefen basalen Einfaltungen. An vielen Stellen der proximalen Tubuluszellen zeigte sich ein vesikulärer Zerfall und eine basale Abstoßung des Bürstensaumes. Das Lumen des proximalen Tubulusabschnittes war ausgefüllt mit blasig aufgeblähten Zytoplasmateilen, mit Trümmern des zerfallenen Bürstensaumes, mit folsäureähnlichen nadelförmigen Kristallen und mit zylinderähnlichen Teilen.

Im Bereich der Henleschen Schleife und im distalen Tubulus wurden nur geringe Veränderungen nachgewiesen, Vereinzelt wurden blasige Abschnürungen apikaler Zellteile, die sich in das Lumen des distalen Tubulus vorstülpen, angetroffen.

Abb. 3

A.1 Stunde nach Folsäuregabe: Proximaler Tubulusabschnitt. Lumen ausgefüllt mit blasig aufgeblähten Zytoplasmateilen (X). Bürstensaum = BS. Einzelne geschwollene Mitochondrien ( ). Zahlreiche elektronendichte und aufgelockerte Einschlüsse: Phagolysosomen (L). Nukleus = N. Vergrößerung 1:7000

B.1 Stunde nach Folsäuregabe: Distaler Tubulusabschnitt. Blasig aufgetriebener apikaler Zellteil ( ). Basale Einfaltung = BE. Vergrößerung 1:7000

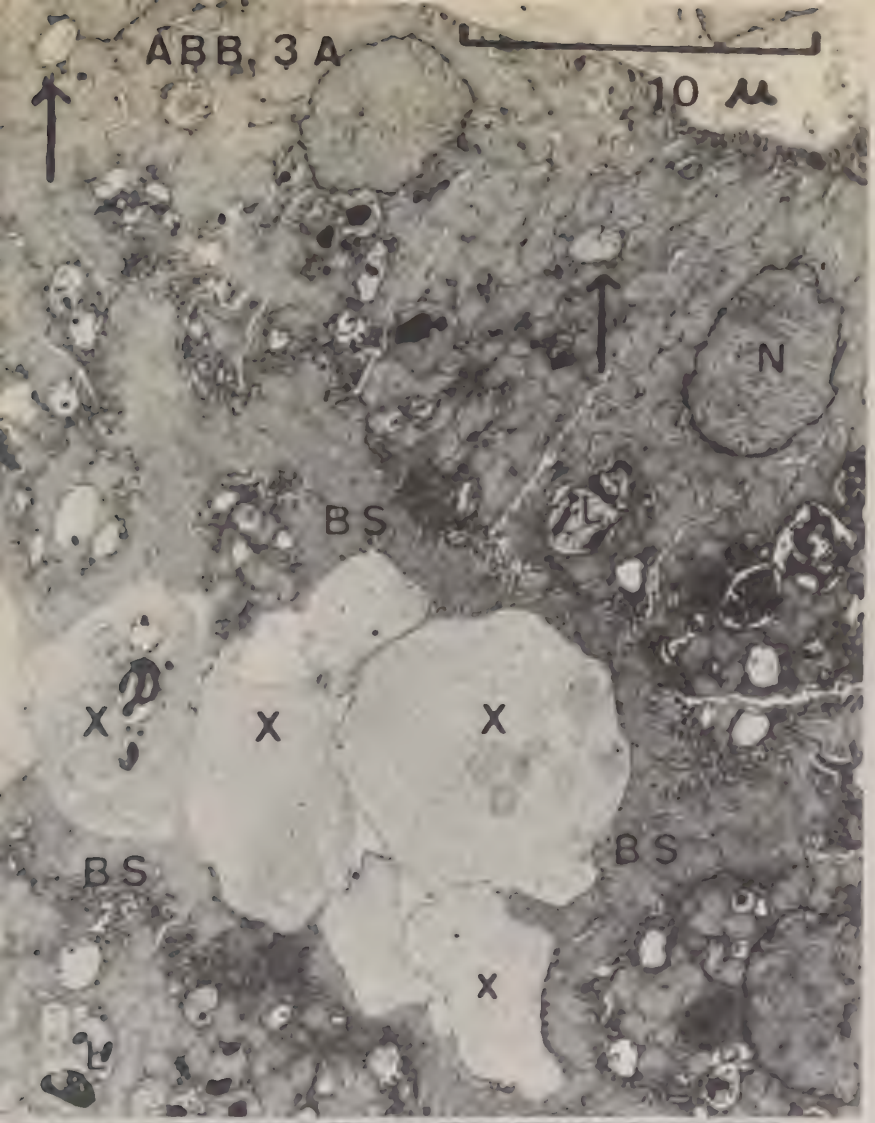


ABB. 3A
10 μ
N
BS
X
X
X
BS
BS
X

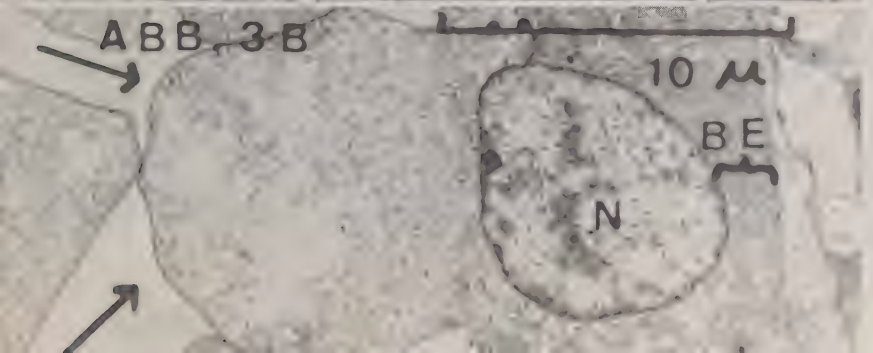


ABB. 3B
10 μ
BE
N

ABB. 4

Abb. 4

1 Stunde nach Folsäuregabe: Gestreckter Teil des proximalen Tubulusabschnittes. Bürstensaum (BS) im vesikulären Zerfall ( ). Streckenweise bereits vollendete Abstoßung ( ). Mitochondrienschwellung (X). Im Lumen (L) folsäureähnliche nadelförmige Kristalle. Vergrößerung 1:24000

Einschub: Hohe Vergrößerung der folsäureähnlichen Kristalle. Vergrößerung 1:84000

D i s k u s s i o n

Die von uns ermittelten Werte für das Feuchtgewicht der Niere einer unbehandelten Ratte betrugen 749 mg/100 g Tier bei einem Tiergewicht zwischen 130 g und 150 g und 675 mg/100 g Tier bei einem Tiergewicht zwischen 220 g und 265 g. Das Trockengewicht der Niere betrug in der niedrigeren Gewichtsklasse 172 mg/100 g Tier und in der höheren Gewichtsklasse 151 mg/100 g Tier.

Die Untersuchungen von HÜBNER (1966) an Normaltieren lassen erkennen, daß einem Rattengewicht von 150 g ein Nierenfeuchtgewicht von 800 mg/100 g Tier und einem Rattengewicht von 250 g ein Nierenfeuchtgewicht von 680 mg/100 g Tier entspricht. Damit korrelieren unsere Befunde mit den Ergebnissen von HÜBNER (1966).

Wir fanden am 4. Tage nach einmaliger intravenöser Injektion von 500 mg/kg Folsäure bei Ratten mit einem Tiergewicht zwischen 130 g und 150 g eine Zunahme des Nierenfeuchtgewichtes um 88% und des Nierentrockengewichtes um 40% und bei Ratten mit einem Tiergewicht zwischen 220 g und 265 g eine Zunahme des Nierenfeuchtgewichtes um 147% und des Nierentrockengewichtes um 89%. Der prozentuale Anteil des Nierentrockengewichtes am Nierenfeuchtgewicht betrug in der niedrigeren Gewichtsklasse für die Kontrolltiere 22,9% und für die mit Folsäure behandelten Tiere 17,1% bzw. in der höheren Gewichtsklasse 21,8% für die Kontrolltiere und 17,1% für die behandelten Tiere.

Ausgehend von HADDOW (1954), der zuerst darüber berichtete, daß die Injektion des Pteridins Xanthopterin bei Ratten eine zeitweilige Nierenvergrößerung hervorrief, die mit einer mitotischen Aktivität in den Tubuli verbunden war, beobachteten TAYLOR, THRELFALL und BUCK (1966); THRELFALL, TAYLOR und BUCK (1966); THRELFALL, TAYLOR, MANDEL und RAMUZ (1967), daß die intravenöse Injektion von Folsäure bei Ratten eine Vergrößerung der Nieren und eine Zunahme des Nukleinsäuregehaltes auslöste und daß

Das Maximum der Nierengewichtsvergrößerung am 4. Tage nach der Verabreichung von Folsäure lag.

Am 4. Tage nach einmaliger intravenöser Injektion von 50 mg Folsäure pro Tier, der bei einem verwendeten Tiergewicht zwischen 100 g und 150 g eine Dosis zwischen 333,3 mg/kg und 500 mg/kg Folsäure entspricht, beobachteten TAYLOR, THRELFALL und LUCK (1966) eine Zunahme des Nierenfeuchtgewichtes um 88% und des Nierentrockengewichtes um 42%. Der prozentuale Anteil des Nierentrockengewichtes am Nierenfeuchtgewicht betrug bei ihnen 22,6% für die Kontrolltiere und 17,0% für die mit 50 mg Folsäure pro Tier behandelten Ratten. Diese Werte stimmen mit unseren eigenen gut überein.

Sowohl bei den Tieren mit einem Tiergewicht zwischen 130 g und 150 g als auch bei den Tieren mit einem Tiergewicht zwischen 220 g und 265 g ergibt sich, daß nach Folsäurebehandlung die Zunahme des Nierenfeuchtgewichtes höher ist als die des Nierentrockengewichtes. Das drückt sich auch in der Erniedrigung des prozentualen Anteils des Nierentrockengewichtes am Nierenfeuchtgewicht aus und ist überwiegend auf eine Zunahme des Wassergehaltes des Nierengewebes nach Folsäuregabe zurückzuführen.

Die stärkere Zunahme des Feucht- und Trockengewichtes der Nieren nach Injektion von 500 mg/kg Folsäure bei Ratten mit größerem Tiergewicht ist u.a. möglicherweise darauf zurückzuführen, daß die schwereren Tiere pro g Nierengewicht mehr Folsäure bekommen als die leichteren Tiere, da nach HÜBNER (1966) die Nierengewichtszunahme während des normalen Wachstums hinter dem Körpergewichtsanstieg deutlich zurückbleibt.

Die Zunahme des Feucht- und Trockengewichtes der Niere nach Folsäuregabe könnte u.a. auf einer spezifischen biochemischen Aktivität der Folsäure beruhen. Dagegen spricht, daß Xanthopterin und das 2,4,5 Triamino-6-styryl -pyrimidin gleichfalls zur Nierenvergrößerung führen, während Tetrahydrofolsäure und auch Triamteren, die eine

direkte Wirkung auf einige biochemische Systeme haben (GREENBERG 1954; MIKOLAJEWSKI 1968), keine Nierenvergrößerung erzeugen (BRADE, HERKEN, MERKER und DRESCHER 1969; TAYLOR, THRELFALL und BUCK 1968). Es scheint sich vielmehr um eine unspezifische Wirkung auf die Niere zu handeln, die im Zusammenhang mit der von uns dabei beobachteten tubulären Schädigung steht und regenerative Prozesse wie RNA- und DNA-Vermehrung zur Folge hat.

TAYLOR, THRELFALL und BUCK (1968) nehmen als Ursache der Nierenvergrößerung nach Applikation hoher Folsäuredosen eine Retention der Substanz in der Niere an, wobei es durch Präzipitation der Folsäure in den Tubuli zu einer teilweisen oder vollständigen Blockade der Tubulusfunktionen und durch die funktionelle Mehrbelastung der verbliebenen intakten Tubuli zu einer Hypertrophie der Niere kommen soll.

Da es nach unseren Untersuchungen zu einer Minderung des Glomerulumfiltrates und nach den Untersuchungen von BRADE, HERKEN, MERKER und DRESCHER (1969) zu einer Reduktion der tubulären Rückresorption von Natrium und Wasser kommt, ist eine funktionelle Mehrbelastung der Tubuli, die, wie TAYLOR, THRELFALL und BUCK (1968) annehmen, zu einer Hypertrophie der Niere führen würde, nicht sehr wahrscheinlich.

Unspezifische Schädigungen anderer Art können die Niere ebenfalls zu einem starken Wachstum anregen. So beschrieben z.B. SCHULERT und ZARDAY (1962) eine Vergrößerung des Nierenfeuchtgewichtes nach einseitiger Nierenhilusabklemmung. Die Nieren von Ratten mit einem mittleren Tiergewicht von etwa 150 g waren 4 Tage nach einer Ischämiedauer von 60 Minuten bis zu 35% schwerer als die kontralateralen Nieren, die ihrerseits wiederum geringgradig schwerer als die Nieren der Kontrolltiere waren. Die unterbundene Niere reagiert mit einer reparatorischen Regeneration, während die nicht unterbundene Niere mit einer kompensatorischen Hypertrophie mitreagiert (STÖCKER 1966).

Der Vergleich ergibt, daß die Nierenvergrößerung nach temporärer Ischämie bedeutend geringer ist als nach Folsäureapplikation.

Auch in der Anfangsphase des kompensatorischen Nierenwachstums nach unilateraler Nephrektomie konnten ähnliche Werte der Zunahme des Nierenfeuchtgewichtes wie nach temporärer Ischämie gefunden werden (HALLIBURTON und THOMSON 1965; MALT und LEMAITRE 1968; HÜBNER 1966). 4 Tage nach unilateraler Nephrektomie bei Ratten mit einem Tiergewicht zwischen 170 g und 250 g betrug der prozentuale Anstieg des Feuchtgewichtes der Restniere 30% gegenüber dem Feuchtgewicht der exstirpierten Niere (HÜBNER 1966).

Beim akuten Nierenversagen des Menschen ist ebenfalls eine Nierenvergrößerung beschrieben. Die postmortal gewonnenen Nieren von Patienten, die in den letzten Tagen ihres Lebens die Zeichen eines akuten Nierenversagens gezeigt hatten, wiesen ein mittleres Nierenfeuchtgewicht auf, das um 37% signifikant höher lag als das der Kontrollnieren (BOHLE, JAHNECKE und RAUSCHER 1964). Histologisch zeigte sich eine Schwellung der Epithelien der Tubuli contorti I und II.

Außer den beschriebenen Differenzen im Ausmaß der Zunahme des Nierenfeuchtgewichtes nach Folsäureapplikation und unilateraler Nephrektomie bestehen noch folgende Unterschiede: Nach unilateraler Nephrektomie nimmt das Nierenfeuchtgewicht viel langsamer zu, wobei das Nierenwachstum nicht kontinuierlich, sondern rhythmisch erfolgt, um nach 5 bis 6 Wochen seinen Abschluß zu finden (HÜBNER 1966; NOLTENIUS, ACHENBACH, OEHLERT und SCHELLHAS 1965). Nach Gabe von 500 mg/kg Folsäure erreicht das Nierenfeuchtgewicht am 4. Tage nach Folsäurebehandlung sein Maximum, um dann auf einen Wert abzusinken, der 10% bis 15% über dem der Kontrolltiere liegt (TAYLOR, THRELFALL und BUCK 1966; THRELFALL, TAYLOR und BUCK 1966). Unterschiede bestehen auch im Grad der Zunahme des Nierentrockengewichtes. Nach unilateraler Nephrektomie nimmt das Nierentrockengewicht

in gleichem Maße zu wie das Nierenfeuchtgewicht (HALLIBURTON und THOMSON 1965), d.h., daß zwischen der Zunahme des Nierenfeuchtgewichtes und der Zunahme des Nierentrockengewichtes eine lineare Beziehung besteht und daß der prozentuale Anteil des Nierentrockengewichtes am Nierenfeuchtgewicht immer gleich ist (MALT und LEMAITRE 1968). Dagegen ist nach Folsäureapplikation die Zunahme des Nierenfeuchtgewichtes höher als die Zunahme des Nierentrockengewichtes, wie es sich auch in der Abnahme des prozentualen Anteils des Nierentrockengewichtes am Nierenfeuchtgewicht zeigt. Das bedeutet, wie schon diskutiert, eine Zunahme des Wassergehaltes des Nierengewebes nach Folsäurebehandlung.

Offensichtlich kann die Niere durch unspezifische Reize wie Verlust oder Schädigung von Nierengewebe zu einem außerordentlichen Wachstum, das mit proliferativen Prozessen wie Protein-, Lipoid-, RNA- und DNA- Vermehrung verbunden ist, angeregt werden.

So nimmt 28 Tage nach unilateraler Nephrektomie der DNA-Gehalt der Niere um 14% und der RNA-Gehalt um 36% zu (MALT und LEMAITRE 1968). Weiterhin wurde bei unilateraler Nephrektomie nach Applikation von radioaktiv markiertem Thymidin gefunden, daß sich alle Tubulusabschnitte an der Nierenregeneration beteiligen, und die DNA-Synthesemaxima mit den Gewichtsmaxima der hypertrophierenden Niere zeitlich gut übereinstimmen (HÜLNER 1966; NOLTENIUS, ACHENBACH, GEHLERT und SCHELLHAS 1965).

Ähnliche Verhältnisse hinsichtlich des DNA-Syntheserhythmus berichtete HÜLNER (1966) bei der Nierenregeneration nach temporärer Ischämie und Sublimatvergiftung.

Durch den Reiz der temporären Ischämie wird der Proliferationsmodus der Niere von der langsamen Phase der physiologischen Zellerneuerung auf die schnelle Phase der Regeneration umgeschaltet, womit eine Steigerung der DNA-Synthese verknüpft ist (STÖCKER 1966). So setzt nach einer temporären Ischämie von 60 Minuten Dauer in der Niere

ab 16 bis 20 Stunden nach Lösen der Ligatur eine starke Steigerung der Inkorporation des radioaktiv markierten Thymidins in die DNA ein (STÖCKER 1966).

Nach Injektion von Folsäure antwortet die Niere ebenfalls mit einer DNA-Vermehrung. THRELFALL, TAYLOR und BUCK (1966) fanden maximale Werte der Nukleinsäuregehalte von Rattennieren 4 Tage nach der Verabreichung von 250 mg/kg Folsäure. Der DNA-Gehalt der Niere war im Homogenat 60% und der RNA-Gehalt 90% höher als der der Kontrolltiere. Die DNA-Synthese hatte schon 24 Stunden nach Folsäuregabe beträchtlich zugenommen und erreichte 48 Stunden nach Folsäuregabe ihr Maximum.

Diese Ergebnisse wurden von BASERGA, THATCHER und MARZI (1968), die die Zellproliferation an der Mäuseniere nach Folsäureinjektion untersuchten, bestätigt und ergänzt. Sie beobachteten, daß die DNA-Synthesesteigerung 20 Stunden nach intraperitonealer Injektion von 250 mg/kg Folsäure begann und 38 bis 60 Stunden nach Folsäuregabe ihr Maximum erreichte. In dieser Zeit war die Zahl der Zellen, die DNA synthetisierten, 100 mal größer als die der Kontrollwerte.

Die Zunahme der Nukleinsäuregehalte der Niere 4 Tage nach Injektion von Folsäure ist begleitet von einer Vermehrung der Ribosomen, die zu Polysomen zusammentreten (BRADE, HERKEN, MERKER und DRESCHER 1969). Das ließe auf eine Steigerung der Proteinsynthese schließen und könnte die Substanzvermehrung der Niere 4 Tage nach Folsäureinjektion erklären.

Der DNA-Synthesesteigerung nach Folsäuregabe folgt eine Mitosewelle, die nach 30 Stunden einsetzt und nach 50 Stunden ihren Höhepunkt erreicht. (BASERGA, THATCHER und MARZI 1968). Dagegen setzt die Mitosewelle nach einer temporären Ischämie der Rattenniere von 60 Minuten Dauer erst nach 48 Stunden ein und erreicht nach 3 Tagen ihren Höhepunkt (CAIN 1961).

Durch die intravenöse Injektion von 500 mg/kg Folsäure kommt es zu einer akuten Störung der Nierenfunktion, die sich in einer vorübergehenden oligurischen Phase, an die sich eine diuretische Phase anschließt, äußert. BRADE, HERKEN, MERKER und DRESCHER (1969) stellten bis zur 16. Stunde nach Folsäureinjektion eine deutliche Einschränkung der Natrium- und Wasserausscheidung fest. Vier Tage nach Folsäureinjektion entsprach die Natrium- und Wasserausscheidung wieder der der Kontrollen.

Weiterhin findet sich nach Folsäureinjektion ein steiler Anstieg des Rest-N im Serum, der sein Maximum am 2. Tage nach Folsäuregabe hat und am 7. Tage die Normalwerte der Kontrollen noch nicht wieder erreicht hat (BRADE, HERKEN, MERKER und DRESCHER 1969). Die nach Folsäureapplikation auftretende Albuminurie klingt bis zum 9. Tage wieder ab.

Der biphasische Verlauf der Harnausscheidung (oligurische und diuretische Phase), die Störungen des Wasser- und Elektrolythaushaltes, der steile Anstieg des Rest-N und die Albuminurie der Ratten nach Folsäureapplikation finden sich in ganz analoger Weise beim akuten Versagen der Nierenfunktion des Menschen bzw. bei tierexperimentell ähnlichen Modellen (OLIVER, DOWELL und TRACY 1951; WOLLHEIM 1952; ZOLLINGER 1952; SWANN und MERILL 1953; FAJERS 1955; SARRE 1959; REUBI 1959; WETZELS und HERMS 1961; SARTORIUS 1962; ROTTER, LAPP und ZIMMERMANN 1962; KABOTH 1965; BRUN und MUNCK 1966).

So ermittelte KABOTH (1965), daß direkt im Anschluß an eine einstündige Ischämie der Rattenniere für 12 bis 24 Stunden eine ausgeprägte Oligurie bestand, die im Verlauf des 2. Tages in eine diuretische Phase von 4 bis 7 Tagen Dauer überging. In der oligurischen Phase fand KABOTH (1965) einen steilen Anstieg des Rest-N mit Albuminurie und mit Beginn der diuretischen Phase ein Absinken des Rest-N-Spiegels, der 7 Tage nach der Nierenischämie bei der Mehrzahl der Tiere noch nicht wieder normalisiert war.

Nach intramuskulärer Injektion von 12 mg/kg $HgCl_2$ entwikkelte sich ebenfalls innerhalb von 24 Stunden in Ratten eine ausgeprägte Anurie bzw.Oligurie (FLANIGAN und OKEN 1965).

Beim Vergleich der funktionellen Veränderungen an der mit Folsäure behandelten Rattenniere mit den funktionellen Veränderungen an der ischämisch geschädigten Rattenniere und mit dem klinischen Bild beim akuten Nierenversagen des Menschen ergibt sich eine grundsätzliche Übereinstimmung in wesentlichen Befunden, wobei nur die relativ kurze Dauer der Oligurie nach Folsäurebehandlung und temporärer Nierenischämie der Ratte von den Funktionsstörungen beim akuten Nierenversagen des Menschen abweicht.

Die Funktionsstörungen nach Folsäureinjektion gehen mit einer Verminderung der glomerulären Filtration einher. Die Inulinclearance nach Injektion von 500 mg/kg Folsäure war am 4. Tage um 65% abgesunken. Am 10. Tage nach Folsäuregabe war die glomeruläre Filtration noch immer um 45% gegenüber den Kontrolltieren herabgesetzt.

Obwohl die glomeruläre Filtration am 4. Tage nach Folsäuregabe stark eingeschränkt war, entsprach die Wasser- und Natriumausscheidung der mit Folsäure behandelten Tiere der der Kontrolltiere (BRADE, HERKEN, MERKER und DRESCHER 1969). Das ist durch eine Abnahme der tubulären Rückresorption zu erklären.

Nach intramuskulärer Injektion von 12 mg/kg $HgCl_2$ in Ratten sinkt die glomeruläre Filtration 6 Stunden nach der Quecksilbervergiftung um 55% gegenüber den Kontrolltieren ab. Eine Blutdrucksenkung wurde als Ursache der Filtrationseinschränkung durch die Versuchsanordnung ausgeschlossen (FLANIGAN und OKEN 1965).
Die Einschränkung der glomerulären Filtration nach Folsäuregabe, nach Quecksilbervergiftung und auch beim akuten Nierenversagen des Menschen (WETZELS und HERMS 1961) ist schwer zu erklären.

Theoretisch kann eine solche Filtrationseinschränkung, abgesehen von extrarenalen Faktoren, durch eine glomerulogene, tubulogene oder vasogene Filtrationseinschränkung zustande kommen.

Die Senkung der glomerulären Filtration bei den mit Folsäure behandelten Ratten ist nicht auf eine Herabsetzung des arteriellen Blutdrucks zurückzuführen (BRADE, HERKEN, MERKER und DRESCHER 1969).

Die elektronenmikroskopischen Untersuchungen nach Folsäureregabe zeigten unversehrte Glomerula. Auch nach autoradiographischen Untersuchungen mit radioaktiv markiertem Thymidin wurde kein Anstieg der markierten Zellen in den Glomerula, durch den auf regenerative und reparative Vorgänge geschlossen werden könnte, beobachtet (BASERGA, THATCHER und MARZI 1968).

Ebensowenig waren elektronen- oder lichtmikroskopische pathologische Veränderungen (DALGAARD und PEDERSEN 1959) oder Blutdrucksenkungen (WETZELS und HERMS 1961) beim akuten Nierenversagen des Menschen erkennbar.

Die von HERKEN, SENFT und STUCKRAD (1961) beschriebene Erniedrigung der glomerulären Filtration von Ratten mit einer Aminonucleosidnephrose läßt sich durch die morphologischen Veränderungen der Glomerula und durch die Senkung des arteriellen Blutdrucks eindeutig erklären (HERKEN, SENFT, SCHWARZ und MERKER 1963).

Der arterielle Blutdruck der nephrotischen Ratten lag unterhalb der Grenze, bei der die Autoregulation der Nieren noch funktioniert und die glomeruläre Filtration mit fallendem Druck absinkt. Die elektronenmikroskopischen Befunde zeigten, daß die Erniedrigung der glomerulären Filtration mit einem Zusammenfließen der Deckzellfortsätze der Glomerula zu kontinuierlichen Platten und einem Verlust des zwischen den Fortsätzen gelegenen Spaltsystems einherging.

HERKEN, SENFT, SCHWARZ und MERKER (1963) erklären sich die Beeinflussung der glomerulären Funktion in folgender Weise: Das Zusammenfließen der glomerulären Deckzellfortsätze führt zu einer Tamponade des zwischen den Fortsätzen gelegenen Spaltsystems und damit zu einem Anstieg des Filtrationswiderstandes.

Durch die Gabe von 6-Methylprednisolon konnten HERKEN, SENFT, SCHWARZ und MERKER (1963) sowohl den arteriellen Blutdruck normalisieren als auch die glomerulogene Filtrationsstörung durch Restitution der Deckzellfortsätze beseitigen.

Mit Applikation von 6-Methylprednisolon erreichten wir nur eine geringe Verbesserung der durch Folsäure bedingten Einschränkung der glomerulären Filtration. Diese geringe Verbesserung könnte auf einem hämodynamischen Effekt des 6-Methylprednisolons beruhen.

An der experimentellen Ischämie konnte eine bevorzugte Schwellung der Fußfortsätze und eine dadurch bedingte Tamponade der Drainagespalten, die von ROTTER, LAU und ZIMMER [illegible] (1962) auf Grund elektronenmikroskopischer Befunde angenommen worden war, trotz eingehender Versuche nicht nachgewiesen werden (THODE 1964). Offenbar bestehen Unterschiede im Mechanismus der glomerulären Filtrationseinschränkung nach Gabe von Aminonucleosid, nach Gabe von Folsäure und nach temporärer Ischämie.

Um eine intrarenale Druckerhöhung, die bei der relativen Unelastizität der Nierenkapsel durch Kompression von Glomerulum-, Tubulus- und Gefäßsystem die glomeruläre Filtration auf vielfache Weise beeinträchtigen könnte, als Ursache der Glomerulumfiltrateinschränkung auszuschließen, dekapsulierten wir die Nieren vor der Folsäureapplikation. Wir konnten jedoch die folsäurebedingte Einschränkung der glomerulären Filtration in keiner Weise verbessern.

Es ist denkbar, daß die nach Folsäureapplikation beobachtete Zylinderbildung im proximalen Tubulus, der mit Zell-

detritus und folsäureähnlichen Kristallen angefüllt ist, zu einer tubulären Obstruktion führen könnte, und es durch die Abflußbehinderung zu einer Einschränkung der glomerulären Filtration kommen würde, wenn der steigende intratubuläre Druck den Filtrationsdruck beeinflußt.

Die Theorie einer Verstopfung der Harnkanälchen durch eingekeilte Zylinder ist von PONFICK (1875) aufgestellt worden. PONFICK (1875) glaubte, daß die Blutfarbstoffe bei einer Hämolyse im Harnkanälchensystem ausfielen und damit zu einer mechanischen Abflußbehinderung des Harnes führen würden. SARRE (1959) wies darauf hin, daß Hämoglobin bei einem pH unter 6 ausfällt.

Chromoproteinbedingte Verstopfungen des Harnkanälchensystems sind sowohl tierexperimentell (SHIMANE 1956; STEINHAUSEN 1964) als auch beim Menschen (ROSEMANN 1960) beobachtet worden.

Die Theorie von PONFICK (1875) wird heute überwiegend abgelehnt. Schon ZOLLINGER (1952) bewies durch Tierversuche, daß es unmöglich ist, allein durch Injektion von Myoglobin oder Hämoglobin eine schwere Nierenläsion zu erzeugen. Auch beim akuten Nierenversagen des Menschen besteht keine Parallele zwischen der Zahl der Zylinder und der Schwere des Nierenversagens. Man ist der Meinung, daß die Zylinder für die Pathogenese des akuten Nierenversagens keine Bedeutung haben, sondern beim Stagnieren des Primärharns entstehen, d.h. nicht Ursache sondern Folge der gestörten Harnausscheidung sind (ZOLLINGER 1952; REUBI 1960; LETTERER und MASSHOFF 1949; RANDERATH und BOHLE 1959; BOHLE, JAHNECKE und RAUSCHER 1964).

Ebenso wird der Zylinderbildung in der experimentellen Ischämieniere, wo sie viel schwächer als beim akuten Nierenversagen des Menschen ist, keine Bedeutung beigemessen (ROTTER, LAPP und ZIMMERMANN 1962; SCHUBERT und ZARDAY 1962; THOENES 1964).

In Versuchen an der Sublimatniere fanden ROTTER, LAPP und ZIMMERMANN (1962), daß die Zylinder mit dem Einsetzen der Diurese unverzüglich ausgeschwemmt wurden. FLANIGAN und OKEN (1965) konnten einen intratubulären Druckanstieg infolge tubulärer Verstopfung als Ursache der Reduktion des Glomerulumfiltrates ausschließen.

Die von uns 1 Stunde nach Folsäureinjektion beobachteten intratubulären Kristalle lassen sich durch die geringe Löslichkeit und die Auskristallisation der Folsäure bei neutralem oder saurem pH erklären. Hinzu kommt, daß eine Anreicherung der Folsäure in der Niere erfolgt (TAYLOR, THRELFALL und BUCK 1968; BRADE, HERKEN, MERKER und DRESCHER 1969).

Die Ausscheidung der Folsäure bei hohen Plasmaspiegeln erfolgt nur über die glomeruläre Filtration ungebundener Folsäure. (JOHNS, SPERTI und BURGEN 1961 und GORESKY, WATANABE und JOHNS 1963). Wir ermittelten, daß innerhalb der ersten 4 Stunden nach einmaliger Injektion von 500 mg/kg Folsäure bei gleichzeitiger Infusion von 2,5 ml/h einer 0,2%igen NaCl-Lösung mit 4,3% Glukose 41% der injizierten Folsäure im Harn erschienen. TAYLOR, THRELFALL und BUCK (1968) fanden 8 Stunden nach einmaliger Injektion von 560 µmol/kg Folsäure (= 247,2 mg/kg Folsäure) noch 20% der injizierten Folsäure in der Niere. Innerhalb der ersten 24 Stunden nach einmaliger Injektion von 500 mg/kg Folsäure bei gleichzeitiger Infusion von 5 ml/h einer 0,2%igen NaCl-Lösung mit 4,3% Glukose waren bereits wieder 75% der verabreichten Folsäuremenge ausgeschieden (BRADE, HERKEN, MERKER und DRESCHER 1969). In der Niere fanden TAYLOR, THRELFALL und BUCK (1968) nach 25 Stunden nur noch 6% der injizierten Folsäure.

Eine Erhöhung des intratubulären Druckes an Rattennieren beschrieben WALTHER und SCHOEPPE (1965) nach temporärer Ischämie und HENRY, LANE und KASHGARIAN (1968) nach Globininjektion.

Der intratubuläre Druckanstieg, der eine reelle Erweiterung des proximalen Tubulus hervorruft, wird auf eine durch die temporäre Ischämie bedingte schwere Insuffizienz der tubulären Rückresorption bezogen (WALTHER 1963; WALTHER und SCHOEPPE 1965). An der Ischämieniere ist wiederholt eine Tubulusdilatation beschrieben und auf die gleiche Weise erklärt worden (ZIMMERMANN 1957; ROTTER, LAPP und ZIMMERMANN 1962; SCHUBERT und ZARDAY 1962; CAIN und FAZEKAS 1963; KABOTH 1965).

Auch RANDERATH und BOHLE (1959) sowie BOHLE, HERFARTH und KRÜCKE (1960) vertreten die Auffassung, daß die Weitstellung des proximalen Tubulus beim akuten Nierenversagen des Menschen auf eine energetisch bedingte Resorptionsinsuffizienz des Tubulusepithels beruht.

Auflichtmikroskopische Intravitalbeobachtungen und histologische Befunde zeigen übereinstimmend, daß es an den Nierentubuli nach temporärer Ischämie (WALTHER 1963) und nach intravitaler Oberflächenbetropfung auf die freigelegte Niere mit KCN oder Dinitrophenol (THOENES, LANGER und WARNING 1968) zu einer ausgeprägten Tubulusdilatation kommt. Durch die lokale KCN-Applikation kommt es nach Meinung von THOENES, LANGER und WARNING (1968) zu einer Hemmung des oxydativen Energiestoffwechsels und deshalb zu einer Hemmung der tubulären Rückresorptionsvorgänge, weil der größte Teil der oxydativen Energiegewinnung in der Niere der tubulären Natrium- und Wasserrückresorption dient (DEETJEN und KRAMER 1960).

Aus dem gleichen Grunde können die Zellschäden nach temporärer Ischämie zu einer Resorptionsstörung führen. Alle morphologischen Befunde (SCHUBERT und ZARDAY 1962; ROTTER, LAPP und ZIMMERMANN 1962; THOENES 1964; KABOTH 1965) und die in-vitro-Untersuchungen (ROBINSON 1961 und 1965) sprechen dafür, daß die damit verbundenen Zellschädigungen hauptsächlich die proximalen Tubuluszellen betreffen.

Die Schädigungen nach hohen Folsäuredosen beschränken sich ebenfalls wie auch bei der Sublimatniere (ROTTER, LAPP und ZIMMERMANN 1962) überwiegend auf den proximalen Tubulus.

Für die Einschränkung der glomerulären Filtration nach Folsäureapplikation könnte eine Drosselung der Blutzufuhr bzw. des intrarenalen Blutdruckes infolge organischer oder funktioneller Veränderungen der Nierengefäße verantwortlich sein. Wir fanden jedoch nach Folsäuregabe keine Schädigungen der Glomerulumkapillaren, wie sie von CAIN und FAZEKAS (1963) und KABOTH (1965) an den Nierenarterien nach temporärer Ischämie beschrieben worden sind. Auch beim akuten Nierenversagen des Menschen wurden keine Gefäßveränderungen an den Nierenarterien beobachtet (BOHLE, JAHNECKE und RAUSCHER 1964).

THOENES (1964) weist daraufhin, daß eine vasogene Filtrationsstörung nicht notwendigerweise ein morphologisches Substrat aufzuweisen braucht. Eine glomeruläre Filtrationseinschränkung könnte auf einer irgendwie gearteten lokalen Beeinflussung des Gefäßsystems beruhen, z.B. auf dem intrarenalen Rückkoppelungsmechanismus über das Macula densa-Segment (THURAU und SCHNERMANN 1965; SCHNERMANN, NAGEL und THURAU 1966; THURAU 1967),

SCHNERMANN, NAGEL und THURAU (1966) nehmen an, daß eine Abnahme der Natriumrückresorption zu einer Erhöhung der Natriumkonzentration im Macula densa-Segment des Nephron führt. Das Macula densa-Segment, das die Erhöhung der Natriumkonzentration registriert, schüttet das für die Freisetzung des vasoaktiven Angiotensins notwendige Renin aus, das seinerseits eine präglomeruläre Vasokonstriktion mit begleitender Filtratminderung verursacht, wodurch der Natriumbestand des Organismus erhalten werden soll.

Nach dieser Hypothese könnte die Einschränkung der glomerulären Filtration nach Folsäuregabe folgendermaßen zustande kommen: Die Schädigung der tubulären Zellfunktio-

nen führt zu einer Verminderung der Natriumrückresorption und zu einer dadurch verursachten Natriumkonzentrationserhöhung im Macula densa-Segment, wodurch es zur Reninfreisetzung und Produktion von Angiotensin kommt. Angiotensin verursacht eine präglomeruläre Konstriktion der Arteriolen, die eine Erniedrigung der glomerulären Filtration zur Folge hat.

Die Frage der langanhaltenden Einschränkung der glomerulären Filtration ist nur durch intratubuläre Druckmessungen bzw. Bestimmungen der intratubulären Natriumkonzentration mit Hilfe von Mikropunktionsmethoden zu lösen.

Zusammenfassung

Die einmalige intravenöse Injektion von 500 mg Folsäure pro kg Tiergewicht führt bei Ratten mit einem Tiergewicht zwischen 130 g und 150 g zu einer Zunahme des Feuchtgewichtes um 88% und des Trockengewichtes um 40%.

Das Nierenwachstum nach Folsäureinjektion wird auf eine Regeneration des Tubulusepithels als Folge einer unspezifischen Schädigung nach intravenöser Folsäureapplikation zurückgeführt.

Mit der Nierenvergrößerung gehen langanhaltende Funktionsstörungen einher. Unmittelbar im Anschluß an die Folsäureinjektion kommt es zu einer oligurischen Phase mit deutlicher Retention von Natrium und Wasser, an die sich eine diuretische Phase anschließt.

Besonders auffällig war die beträchtliche Verminderung der glomerulären Filtration, die am 4. Tage nach Folsäuregabe um 65% abgesunken war und am 10. Tage nach Folsäuregabe noch immer um 45% gegenüber den Kontrolltieren herabgesetzt war.

Die Minderung der glomerulären Filtration kann nicht auf morphologische Veränderungen der Glomerula oder der Nierengefäße zurückgeführt werden. Bei der elektronenmikroskopischen Untersuchung zeigten Deckzellen, Basalmembran und Endothelzellen der Glomerula und die Gefäße keine Strukturveränderungen. Das gleiche gilt für den iuxtaglomerulären Apparat. Dagegen fanden sich beträchtliche Veränderungen in den Zellen des proximalen Tubulus.

L i t e r a t u r v e r z e i c h n i s

BASERGA, R., THATCHER, D. und MARZI, D.
Cell proliferation in mouse kidney after a single Injection of folic acid
Lab. Invest. 19, 92 (1968)

BOHLE, A., HERFARTH, CH. und KRECKE, H.J.
Beitrag zur Morphologie der Niere beim akuten Nierenversagen
Klin. Wschr. 38, 152 (1960)

BOHLE, A., JAHNECKE, J. und RAUSCHER, A.
Vergleichende histometrische Untersuchungen an bioptisch und autoptisch gewonnenem Nierengewebe mit normaler Funktion und bei akutem Nierenversagen
Klin. Wschr. 42, 1 (1964)

BRADE, W., HERKEN, H., MERKER, H.J. und DRESCHER, W.
Schädigung und Regeneration renaler Tubuluszellen nach Folsäuregabe
Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmak. 262, 228 (1969)

BRUN, C. und MUNCK, O.
Pathophysiology of the kidney in shock and in acute renal failure
Progr. Surg. (Basel) 4, 1 (1964)

CAIN, H.
Karyologische Befunde bei Regenerationsvorgängen in der Niere
Verh. dtsch. Ges. Path. 45, 174 (1961)

CAIN, H. und FAZEKAS, S.
Studien über die Folgen einer vorübergehenden experimentellen Nierenischämie
Virchows Arch. path. Anat. 336, 311 und 389 (1963)

COTLOVE, E.
Simple tail vein infusion method for renal clearance measurements in the rat
J. App. Physiol. 16, 764 (1961)

DALGAARD, O.Z. and PEDERSEN, K.J.
Renal tubular degeneration: electron microscopy in ischaemic anuria
Lancet 2, 484 (1959)

DEETJEN, P. und KRAMER, K.
Na-Rückresorption und O_2-Verbrauch der Niere
Klin. Wschr. 38, 680 (1960)

FAJERS, C.-M.
On the effect of brief unilateral renal ischemia. Part I - IV
Acta. path. microbiol. scand. Suppl. 106, 1 (1955)

FLANIGAN, W.J., und OKEN, D.E.
Renal micropuncture study of the development of anuria in the rat with mercury-induced acute renal failure
J.clin. Invest. 44, 449 (1965)

FÜHR, J., KACZMARCZYK, J. und KRÜTTGEN, C.D,
Eine einfache colorimetrische Methode zur Inulinbestimmung für Nieren-Clearance-Untersuchungen bei Stoffwechselgesunden und Diabetikern
Klin. Wschr. 33, 729 (1955)

GORESKY, C.A., WATANABE, H. and JOHNS, D.G.
The renal excretion of folic acid
J. clin. Invest. 42, 1841 (1963)

GREENBERG, G.R.
Role of folic acid derivatives in purine biosynthsis
Fed. Proc. 13, 745 (1954)

HADDOW, A.
In: Chemistry and biology of pteridines, p. 100. London: Churchill 1954

HALLIBURTON, I.W., and THOMPSON, R.H.
Chemical aspects of compensatory renal hypertrophie
Cancer Res. 25, 1882 (1965)

HENRY, E.N., LANE, C.E. and KASHGARIAN, M.
Micropuncture studies of the pathophysiology of acute renal failure in the rat
Lab. Invest. 19, 309 (1968)

HERKEN, H., SENFT, G., SCHWARZ, W. und MEYER, E.J.
Struktur und Funktion der Glomerula nach Einwirkung von Glucocorticoiden bei der Aminonucleosidnephrose
Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmak. 245, 289 (1963)

HERKEN, H., SENFT, G. und STUCKRAD, H.v.
Die Störungen der Nierenfunktion nach Einwirkung von Aminonucleosid
Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmak. 240, 394 (1961)

HERKEN, H., SENFT, G. und WILUTZKY, H.
Die Erzeugung von Natrium- und Wasserretention zur Prüfung der Diuretica
Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmak. 229, 123

HÜBNER, K.
Experimentelle Untersuchungen über kompensatorische Hypertrophie, Wachstum und Regeneration der Rattenniere
Verh. dtsch. Ges. Path. 50, 132 (1966)

JOHNS, D.G., SPERTI, S. and BURGEN, A.S.V.
The metabolism of tritiated folic acid in man
J. clin. Invest. 40, 1684 (1961)

KABOTH, U.
Vergleichende funktionelle und morphologische Untersuchungen an der ischämisch geschädigten Rattnniere
Z. ges. exp. Med. 138, 561 (1965)

LETTERER, E. und MASSHOFF, W.
Über erythrolytische Nephrose
Virchows Arch. path. Anat. 317, 56 (1949)

LOWRY, O.H., ROSEBROUGH, N.J., FARR, A.L. and RANDALL, R.J.
Protein measurements with the folin phenol reagent
J. Biol. Chem. 193, 265 (1951)

MALT, R.A., LEMAITRE, D.A.
Accretion and turnover of RNA in the renoprival kidney
Am. J. Physiol. 214, 1041 (1968)

MIKOLAJEWSKI, V.
Beeinflussung der Folatreduktase durch Triamteren und Triamterenderivate
Inaug.-Diss., Med. Fak. Freie Universität Berlin 1968

NOLTENIUS, H., ACHENBACH, H., OEHLERT, W. und SCHELLHAS, H.
Experimentelle Nierenvergrößerung nach unilateraler Nephrektomie bei Ratten
Beitr. path. Anat. 132, 220 (1965)

OLIVER, J., DOWELL, J.A. und TRACY, A.
The pathogenesis of acute renal failure associated with traumatic and toxic injury. renal ischaemia, nephrotoxic damage and the ischemuric episode
J.clin. Invest. 30, 1307 (1951)

PÄTAU, K.
Zur statistischen Beurteilung von Messungsreihen (eine t-Tafel)
Biol. Zentralblatt 63, 154 (1943)

PETERS, G.
Glomeruläre Clearancen, p-Aminohippursäure-Clearance und Diurese bei verschiedenen Diureseformen der nicht narkotisierten Ratte
Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp-Path. Pharmak. 235, 113 (1959)

PONFICK
Experimentelle Beiträge zur Lehre der Transfusion
Virchows Arch. path. Anat. 62, 273 (1875)

RANDERATH, E. und BOHLE, A.
Morphologische Grundlagen akuter extrarenal bedingter Nierenfunktionsstörungen
Verh. dtsch. Ges. inn. Med. 65, 250 (1959)

REUBI, F.
Nierenkrankheiten, S. 522
Stuttgart u. Bern: Hans Huber 1960

REUBI, F.
Die Leistungsfähigkeit der Schockniere im akuten Stadium und während der Rekonvaleszenz
Melsunger Med.-Pharmaz. Mitt. 91, 1772 (1959)

ROBINSON, J.R.
Exchanges of water and ions by kidney slices determined by a balance method
J. physiol. (Lond.) 158, 449 (1961)

ROBINSON, J.R.
Oxygen consumption and electrolyte composition of kidney slices between 20 and 0° C
J. physiol. (Lond.) 177, 112 (1965)

ROSENMANN, G. — Zur Pathogenese der chromoproteinämischen Nephrose. Beitr. path. Anat. 122, 199 (1960)

ROTTER, W., LAMP, . und ZIMMERMANN, H. — Pathogenese und morphologisches Substrat des akuten Nierenversagens und seine Erholungszeit. Dtsch. med. Wschr. 87, 669 (1962)

SARRE, H. — Nierenkrankheiten. Stuttgart: Thieme 1959

SARTORIUS, H. — In: Akutes Nierenversagen, S. 125. Stuttgart: Thieme 1959

SCHNERMANN, J., NAGEL, W. und THURAU, K. — Die frühdistale Natriumkonzentration in Rattennieren nach renaler Ischämie und hämorrhagischer Hypotension. Pflügers Arch. ges. Physiol. 278, 296 (1966)

SCHUBERT, G.E. und ZARDAY, Z. — Beitrag zur Morphologie der Niere nach temporärer Unterbindung der Nierenarterie. Z. ges. exp. Med. 135, 583 (1962)

SHIMANE, T. — Experimentelle Untersuchungen über die pathogenetische Bedeutung der "Chromoproteinurie" für die Entstehung der "Chromoproteinniere". Beitr. path. Anat. 116, 330 (1956)

STEINHAUSEN, M. — In vivo-Beobachtungen an der Nierenpapille von Goldhamstern nach intravenöser Lissamingrün-Injektion. Pflügers Arch. ges. Physiol. 279, 195 (1964)

STÖCKER, E. — Der Proliferationsmodus in Niere und Leber. Verh. dtsch. Ges. Path. 50, 53 (1966)

SWANN, R.C. und MERILL, J.P. — The clinical course of renal failure. Medicine (Baltimore) 32, 215 (1953)

TAYLOR, D.M., THRELFALL, G. and BUCA, A.T. — Stimulation of renal growth in the rat by folic acid Nature (Lond.) 212, 472 (1966)

TAYLOR, D.M., THRELFALL, G. and BUCA, A.T. — Chemically-induced renal hypertrophy in the rat Biochem. Pharmac. 17, 1567 (1968)

THOENES, W. — Mikromorphologie des Nephron nach temporärer Ischämie Stuttgart: Thieme 1964

THOENES, W., LANGER, K.H. und WARNING, A. — Funktionsmorphologische Studien zur energetischen Insuffizienz des Nierentubulus Klin. Wschr. 46, 696 (1968)

THRELFALL, G., TAYLOR, D.M. and BUCA, A.T. — The effect of folic acid on growth and deoxyribonucleic acid synthesis in the rat kidney Lab. Invest. 15, 1477 (1966)

THRELFALL, G., TAYLOR, D.M. and MANDEL, P. and RAMUZ, M. — Metabolism of nuclear RNA in the rat kidney after injektion of folic acid Nature (Lond.) 215, 755 (1967)

THURAU, K. und SCHNERMANN, J. — Die Natriumkonzentration an den macula densa-Zellen als regulierender Faktor für das Glomerulumfiltrat Klin. Wschr. 43, 410 (1965)

THURAU, K. — Nature of autoregulation of renal blood flow In: Proc. 3rd int. Congr. Nephrol. (Washington) 1 S. 162. Karger: Basel-New York (1967)

WALTHER, D. — Ein Beitrag zur Insuffizienz der proximalen Nierentubuli und zur Deutung der "Nephrohydrose" Münch. med. Wschr. 105, 1370 (1963)

WALTHER, D. und SCHOEPPE, W. — Der Einfluß des intratubulären Druckes auf die Tubulusweite unter normalen und pathologischen Bedingungen Klin. Wschr. 43, 1092 (1965)

WETZELS, E. und HERMS, W. Die akute Tubulusnekrose
Dtsch. med. Wschr.
86, 514 und 657 (1961)

WOLLHEIM, E. Über die tubulären Funktionsstörungen der Niere
Verh. dtsch. Ges. inn. Med.
58, 211 (1952)

ZOLLINGER, H.U. Anurie bei Chromoproteinurie
Stuttgart: Thieme 1952

Zum Abschluß möchte ich Herrn Professor Dr. med. H. Herken und Herrn Dr. med. W. Brade für ihre freundliche Hilfe bei den Versuchen und für ihre Mühe bei der Durchsicht der Arbeit herzlich danken.

Lebenslauf

Am 5. Februar 1942 wurde ich in Mülhausen/Elsaß geboren. 1945 fiel mein Vater und meine Mutter nahm mit mir Wohnsitz in Berlin. Hier wurde ich 1948 eingeschult. 1961 legte ich meine Reifeprüfung ab und begann mit dem Studium der Medizin an der Freien Universität Berlin. 1967 bestand ich hier die Ärztliche Prüfung. Zur Zeit bin ich als Medizinalassistent tätig.